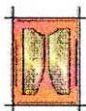


**PROTOCOLO DE MANEJO ODONTOLÓGICO DE LAS RATAS WISTAR PARA EL
ESTUDIO DE RECUBRIMIENTOS PULPARES DIRECTOS EN MOLARES CON
DENTINA LIOFILIZADA.
(PRUEBA PILOTO)**



Alarcón, M. Forero, N. Gaona, A. Hernández, D. Lapuente, L. Lasso, N. Rincón, J. Rodríguez, V. Rodríguez, J. Saavedra, D. *

Alarcón, M. **
González, M. A. ***
Pachón, M. ****

AREA: Ciencias Básicas y biomédicas. Modalidad oral. Categoría Pre-grado.

RESUMEN:

Objetivo General: Describir los hallazgos clínicos e histológicos del manejo de las ratas wistar para el estudio del recubrimiento pulpar directo con dentina liofilizada.

Método: Estudio experimental fase II de laboratorio, cuyo objeto de estudio fueron 25 primeros y segundos molares de ratas wistar con un peso de 236 a 435 gramos, de cuatro meses de edad. Las variables fueron: protocolo de anestesia, manejo clínico en el bioterio, mantenimiento de la obturación en cavidades Clase I, tipo de material obturante, peso, tiempo y hallazgos histológicos.

Resultados: En el protocolo de anestesia que se utilizó en el quirófano fue: Acepromazina, Butorfanol, Ketamina y Atropina; Isoflurano y Ketoprofeno. El manejo clínico se hizo en posición decúbito ventral. 14 obturaciones se mantuvieron, 4 en amalgama por 41 días, 2 en ionómero de vidrio por 21 días y 8 en resina por 29 días. Los cortes histológicos fueron muy gruesos y no se reportan hallazgos.

Conclusión: Los anestésicos fueron acepromazina, xilacina, ketamina y ketoprofeno. El manejo clínico es en posición decúbito ventral. Se mantuvieron 14 obturaciones: 8 en resina durante 29 días, 2 en ionómero de vidrio por 21 días y 4 en amalgama por 41 días.

Palabras Clave: Dentina, Liofilización, rayos gamma, ratas wistar, amalgama, resina, ionómero de vidrio.

ABSTRACT

Objective: To describe the clinical and histologic findings of the handling of the Wistar rats for the study of direct coverings to pulpar with liofilization dentine.

Method: Experimental study phase II of laboratory, whose object of study was 25 first and second molars of rats to wistar with a weight of 236 grams to 435 grams, of four months of age. The variables were: Anesthesia protocol, clinical handling in bioterio, maintenance of the clogging in cavities class I, histologic type of obturant material, weight, time and findings.

Results: In the anesthesia protocol was used it: acepromazine operating room, butorfanol, ketamine and atropine, isoflurano and ketoprofeno. The clinical handling was made on guard of ventral cúbito. 14 cloggings stayed, 4 in amalgam by 29 days. 2 in ionómero glass by 21 days and 8 in resin by 41 days. The histologic cuts were very heavy and findings are not reported.

Key words: dentine, liofilization, Wistar rats, gamma rays, amalgam, resin, glass ionomer

** Asesor Científico. Odontóloga, Especialista en Cirugía, Implantología y Patología Oral.

*** Asesor Metodológico. Odontóloga, Magíster en administración en salud.

**** Asesor Estadístico. Estadista.

INTRODUCCION

La dentina, es el eje estructural del diente y constituye el tejido mineralizado que conforma el mayor volumen del diente, en la porción coronal se halla recubierta a manera de casquete por el esmalte, mientras que en la región radicular está tapizada por el cemento. Las células formadoras de la dentina son los odontoblastos los cuales se localizan en la periferia de la pulpa dental y las prolongaciones citoplasmáticas de los odontoblastos se alojan dentro de los túbulos dentinales.(1) La dentina humana fue aislada y liofilizada para observar si tenía ADN y con los estudios anteriores se comprobó que no estaba presente(2). La investigación de materiales de uso odontológico que se utiliza en cavidad oral, necesita de estudios previos en laboratorio y en animales de experimentación para poder ser utilizados posteriormente en el ser humano. El diseño de los experimentos que se utilizan en animales de laboratorio necesita de una definición detallada de las características genéticas y ambientales.(3)

Con base a esto se pregunta: ¿Cómo es el manejo clínico y odontológico de las ratas wistar?, ¿Cómo es el proceso anestésico?, ¿Cuál es el material de obturación que mayor duración tiene en las cavidades Clase I de los molares de ratas wistar? y ¿Cuál es el efecto histológico de la dentina liofilizada sobre la pulpa expuesta en los molares de las ratas wistar?

Se realiza como prueba piloto, aportando conocimiento para luego realizar estudios de recubrimientos pulpaes directos con dentina liofilizada humana que posteriormente será aplicada en seres humanos, por ser un producto de origen orgánico y biocompatible con la estructura dentaria. La utilidad clínica en el estudio definitivo será la formación de puentes dentinales en recubrimientos pulpaes directos en dientes que presentan exposiciones pulpaes por caries dental.

La dentina humana tiene una matriz orgánica formada por colágeno tipo I, III y presenta proteínas no colágenas como la sialoproteína, osteopontina, fibronectina y proteoglicanos como en condroitinsulfato, dermatansulfato y ácido hialurónico. Estas sustancias participan con la fosfatasa alcalina para que se produzca la precipitación mineral sobre la trama orgánica (4) (5) (6).

La liofilización de la dentina, consiste en introducir el producto a tratar en una cámara, y realizarle vacío rápidamente. Este proceso consiste en desecar un producto previamente congelado, lográndose la sublimación del hielo bajo vacío. Es por lo tanto el paso directo del hielo (sólido) a gas (vapor), sin que en ningún momento aparezca el agua en su estado líquido. Se obtiene una masa seca, esponjosa de más o menos el mismo tamaño que la masa congelada original, mejorando su estabilidad y siendo fácilmente predisuelta en agua.(7)

La radiación Gamma, que se conoce también como radiación ionizante o energía ionizante, es una forma de esterilización de los bancos de tejidos. La tecnología esta bien pulida y la radiación ha sido usada para esterilizar productos y suplementos médicos favoreciendo el método de escogencia en muchos países por el costo y razones de calidad. (8) La dentina del presente estudio fue irradiada con 25 KGy. (9).

Los materiales para Recubrimiento pulpar Directo son: el hidróxido de calcio, el mineral trióxido agregado (MTA).(10) (11) (12).

Los materiales que se utilizan para la restauración final son las resinas , materiales de baja viscosidad con un porcentaje menor de carga de vidrio que contienen partículas de relleno finas la cual presenta gran escurrimiento, esto para mejorar la humectación y la adaptación de la resina a las paredes cavitarias disminuyendo la micro filtración. (13) (14).

La Amalgama es una aleación de metales entre ellos el mercurio, la plata y el estaño la mayor cantidad en partes iguales que se unen a través de un proceso de amalgamación, un triturador del cual se obtiene una masa plástica que reacciona o se solidifica en el interior de la cavidad, esta comienza desde la trituración hasta el tallado y pulido; se conserva en la cavidad mediante retención mecánica. La plata y el Cobre originan la expansión al cristalizar además que incrementan la fuerza y la resistencia a la corrosión. El Estaño produce contracción secundaria al solidificar disminuyendo la fuerza y la resistencia a la corrosión. Durante la fabricación, el Zinc reduce la oxidación de

otros metales de la aleación, las investigaciones han demostrado que la amalgamas con este material tienen un mayor tiempo de duración en boca.(15) (16).

Los cementos de ionómero de vidrio poseen la resistencia adecuada para ser empleados como base intermedia, material restaurador o para una restauración provisional. tiene características de compuestos iónico o cerámico y plástico, por lo que es aislante térmico y eléctrico. Tiene valores altos de resistencia a la compresión, y alcanza la más baja solubilidad de todos los cementos después de 24 horas de colocados. Como material de restauración, su resistencia a la compresión permite usarlo en áreas de los dientes que reciban poca o ninguna carga de oclusión, ya que no resiste este tipo de cargas cuando son altas. (17) (18).

Las Ratas wistar son roedores que vienen de la palabra rodere, significando roer. El orden de los roedores es el más extenso de la clasificación mamífera y contiene una gran diversidad de especies. Todas las especies tienen una fórmula dental que caracteriza la variación en el tamaño dental y forma entre los incisivos y molares. Los dientes incisivos superiores e inferiores de los roedores, vienen en un punto tipo cincel que se angula hacia atrás en dirección a la lengua. Estos dientes tienen esmalte en la parte anterior y lateralmente pero atípicamente solo tienen cemento y dentina sobre el lado hacia la lengua. El cemento y la dentina se desgastan mucho más rápido que el esmalte, resultando en un borde en cincel que es más largo labialmente. En suma, el esmalte en muchas de estas especies comúnmente toma una tinción amarilla naranja, dando a estos dientes su típica apariencia amarilla brillante. Estos dientes se curvan a través de los maxilares durante el crecimiento, resultando en su gran forma curva. La fórmula dental de las ratas adultas es la siguiente: $2 \times (I \ 1/1, C \ 0/0, P \ 0/0, M \ 2-3/2-3) = 12$ a 16 dientes totales.(19)(20).

Los procedimientos se realizaron de acuerdo con las normas internacionales existentes: Declaración Universal de los derechos de los animales (UNESCO), la OMS y Declaración de Helsinki y Hong Kong. En Colombia la resolución 8430 de

1993 trata de la protección de los animales contra el sufrimiento y el dolor causado directa o indirectamente por el hombre. (21).

En esta investigación se tiene como objetivo general describir los hallazgos clínicos e histológicos del manejo de las ratas wistar para el estudio del recubrimiento pulpar directo con dentina liofilizada. Para obtener estos resultados se plantearon como objetivos específicos Establecer el protocolo de anestesia de las ratas wistar, describir el manejo clínico a nivel Odontológico de las ratas wistar, determinar el tiempo de duración de las obturaciones en los molares con cavidades clase I de Black de las ratas wistar, establecer el material de obturación (amalgama, resina , ionómero de vidrio), que mayor tiempo permaneció en las cavidades de los molares y determinar los efectos histológicos de la dentina liofilizada sobre la pulpa expuesta.

MATERIALES Y MÉTODO

El tipo de estudio experimental fase II: de laboratorio, cuyo objeto de estudio fueron las obturaciones de los molares y la población de estudio fueron los primeros y segundos molares de roedores tipo ratas wistar, distribuidos en 2 primeros molares superiores derechos e izquierdos y 2 molares inferiores derechos e izquierdos de 4 ejemplares con 4 meses de edad. Las variables que se estudiaron fueron: Protocolo de anestesia , manejo clínico odontológico de las ratas, tiempo de mantenimiento en días de la obturación, refuerzo de la obturación, material obturante, posición del molar según su orden, posición del molar según la arcada, controles realizados y peso.(Cuadro 1 operacionalización de las variables). Para efectos de este estudio se realizaron los siguientes instrumentos: Instrumento 1: Hallazgos Clínicos de los Recubrimientos Pulpares Directos con Dentina Liofilizada en Morales de Ratras Wistar. Instrumento 2: Hallazgos Histológicos de los Recubrimientos Pulpares Directos con Dentina Liofilizada en Morales de Ratras Wistar.

Se realizó un diseño prueba experimental donde utilizaron 2 ratas wistar también llamadas albinas, de una edad promedio de 4 meses de edad. En la primera etapa de

calibración se hizo un reconocimiento de la anatomía dental de la rata wistar, se utilizaron dos dientes molares del maxilar inferior y se realizaron cavidades clase uno en cada uno de los dientes. Las cavidades fueron realizadas por personal previamente calibrado. Después de llevar a cabo el diseño experimental se procedió a realizar la prueba piloto bajo los parámetros estipulados por la ley 84 de 1989, que habla acerca de la investigación biomédica en animales, se entregó al comité de ética el protocolo y se solicitó el consentimiento para llevar a cabo el estudio piloto y se calculó la muestra necesaria para este trabajo.

En el estudio piloto se tomaron seis ratas machos con un rango de cuatro a seis meses de edad, con un peso que oscilaba entre 236 grs. a 435 gr.; manipulados por personal especializado, se inhabilitaron y se realizó asepsia y antisepsia, inducción anestésica a nivel peritoneal con jeringa hipodérmica usando la siguiente combinación de medicamentos: Midazolam 2 mg/kg, Ketamina de 50mg/Kg., Acepromacina de 0.1 mg/Kg., Butorfanol de 0.2mg/kg a nivel intramuscular. Posteriormente se les suministró Isoflurano y oxígeno a 5cm de distancia. En el campo operatorio se realizó la apertura bucal con bandas elásticas tanto en el maxilar superior como en el inferior. Se usaron espátulas de resina previamente modificadas para retraer los carillos y la lengua. Se colocaron los animales en posición decúbito ventral y se les realizaron cavidades clase I de Black con fresas 1/4 redondas de carburo, penetrando la parte activa completamente, provocando microexposiciones pulpares. Se controla la hemorragia con motas de algodón secas-estériles y se colocó dentina en polvo (liofilizada y almacenada en frascos sellados y numerados) del frasco #14; se hidrató con agua estéril y se llevó a la cavidad con la ayuda de una cucharilla # 5 y un instrumento aplicador de hidróxido de calcio, como material para realizar el recubrimiento pulpar directo y se colocó la restauración definitiva amalgama, tomando un diente control y otros dientes de estudio distribuidos de la siguiente manera:

En la Rata # 3 donde se tomaron: primer molar superior derecho y primer molar inferior derecho se colocó dentina seca y se obturó con ionómero de vidrio tipo II, en

el primer molar superior izquierdo se colocó dentina hidratada y se obturó con ionómero de vidrio tipo II, primer molar inferior izquierdo: hidróxido de calcio se obturó con ionómero de vidrio Tipo II – diente control

A la Rata # 4 donde se tomaron: el segundo molar inferior derecho e izquierdo donde se aplicó dentina seca y se obturó con ionómero de vidrio tipo II y en el primer molar inferior izquierdo se colocó dentina húmeda y se obturó con ionómero de vidrio. Y en el primer molar inferior derecho se colocó hidróxido de calcio y se obturó con ionómero de vidrio tipo II –Diente control. El Primer control se realizó a los ocho días.

Rata # 3, Primer control en los primeros molares superiores derecho e izquierdo las restauraciones en ionómero de vidrio se observaron desadaptadas y se reforzaron con ionómero de vidrio, en los primeros molares inferiores derecho e izquierdo se observó pérdida de la obturación y se obturaron nuevamente con ionómero de vidrio. Segundo control, en los primeros molares superiores derecho e izquierdo se observó la restauración en ionómero de vidrio desadaptada y se reforzaron con ionómero de vidrio, en el primer molar inferior derecho se observó que la obturación en ionómero de vidrio se pierde y se obtura nuevamente con amalgama, en los primeros molares inferiores derecho e izquierdo las obturaciones en ionómero de vidrio se pierden y se obturan nuevamente en amalgama. Tercer control, en los primeros molares superiores derecho e izquierdo las obturaciones en ionómero de vidrio se perdieron, en los primeros molares inferiores derecho e izquierdo las restauraciones en amalgama se observaron adaptadas.

Rata # 4, Primer control, en los primeros molares inferiores derecho e izquierdo y en los segundos molares inferiores derecho e izquierdo no se observaron las restauraciones en ionómero de vidrio y nuevamente se obturan con ionómero de vidrio. Segundo control, en los primeros molares inferiores derecho e izquierdo y en los segundos molares inferiores derecho e izquierdo las obturaciones en ionómero de vidrio se pierden y se obturan en amalgama. Tercer control se observaron las restauraciones adaptadas en todos los molares antes mencionados. Al tercer control se finalizó el tiempo de estudio el

cual tuvo una observación de 21 días y se procedió a realizar la eutanasia con un protocolo eutanásico preestablecido: Aplicación anestésica intramuscular con Acepromacina de 0.1 mg/Kg, y Buporfanol de 0.2mg/Kg, Ketamina de 40mg/kg. Se les suministro Eutanex, que contiene Pentobarbital Sódico de 390mg, Difenilhidantoína Sódica de 50mg a nivel de tórax. Posterior a la eutanasia se realizó mandibulectomía en el maxilar y en la mandíbula y sumergidas en frascos rotulados con formol para ser enviados a estudio histopatológico bajo un microscopio de luz.

Se realizó un segundo procedimiento en el cual se utilizaron 4 ratas donde las ratas 3 y 4 serán denominadas 5 y 6 respectivamente para poder diferenciar las ratas del primero y segundo procedimiento. A las Rata # 1, 2 y 6 se les realizó, en los primeros molares; inferior izquierdo dentina seca y se obtuvo con amalgama, e inferior derecho, se colocó hidróxido de calcio y se obtuvo con amalgama – diente control, y en el superior derecho se colocó dentina hidratada y se obtuvo con amalgama.

A la Rata # 5 se le realizó en los primeros molares inferiores izquierdo y derecho se colocó dentina seca y se obturaron con resina y el primer molar superior derecho se le colocó hidróxido de calcio y se obtuvo con resina.

El tiempo empleado por cada procedimiento fue aproximadamente de 40 a 45 minutos. El protocolo analgésico postoperatorio fue manejado con Ketoprofeno de 1.25 mg/kg de peso una vez al día por tres días. Se realizaron controles periódicos semanales durante los dos siguientes meses.

Rata #1, primer control, en los primeros molares derechos superior e izquierdo se observó pérdida de la restauración en amalgama y se obtuvo nuevamente con amalgama para evitar absceso y dolor posterior. En el primer molar inferior izquierdo la restauración en amalgama se observó adaptada. Segundo control, en los primeros molares derechos superior e inferior no se observaron las restauraciones en amalgama y se obturaron nuevamente con resina y en el primer molar inferior izquierdo se observa la restauración en amalgama desadaptada y se reforzó con resina, por encontrarse pérdida de varias obturaciones se decidió tomar el primer molar superior izquierdo donde se aplicó

dentina seca y se obtuvo con resina. Tercer control, en los primeros molares derechos superior e inferior se observaron las restauraciones en resina adaptadas, en el primer molar inferior izquierdo se observa la restauración en amalgama y se reforzó con resina, en el primer molar superior izquierdo la restauración se observa desadaptada y se refuerza con resina. Cuarto y Quinto control, en los primeros molares inferior derecho y en los superiores derecho e izquierdo se observaron las restauraciones en resina desadaptadas y se reforzó con resina, en el primer molar inferior izquierdo se observó pérdida de la restauración en amalgama y se obtuvo nuevamente en resina. Sexto control se mantuvieron todas las restauraciones en los molares antes mencionados.

Rata #2. Primer control en los primeros molares inferiores izquierdos y derechos y en el superior derecho las restauraciones se observaron adaptadas. Segundo control en los primeros molares inferior izquierdo y derecho las restauraciones en amalgama se observaron adaptadas, en el primer molar superior derecho la obturación en amalgama se observa desadaptada y se refuerza con resina se decidió tomar el primer molar superior izquierdo y el segundo molar inferior derecho donde se realizó microexposición y se colocó dentina seca y se obturaron con resina. Tercer control en el primer molar superior derecho la obturación en amalgama se encuentra adaptada, en el primer molar superior izquierdo la obturación en resina se observa adaptada, en los primeros molares inferiores izquierdo y derecho las obturaciones en amalgama se observaron desadaptadas y se reforzaron con resina, el segundo molar inferior derecho la obturación en resina se observó desadaptada y se reforzó con resina. Cuarto control, en los primeros molares inferiores derecho e izquierdo las restauraciones en amalgama se observaron desadaptadas y se reforzaron con resina, en el primer molar superior izquierdo y en el segundo molar inferior izquierdo las restauraciones en resina se observaron desadaptadas y se reforzaron con resina, en el primer molar superior derecho se encuentra la restauración en amalgama adaptada. Quinto control, en los primeros molares inferiores derecho e izquierdo se observaron restauraciones desadaptadas en amalgama se realizaron

refuerzos en resina, en el primer molar superior izquierdo la obturación en resina se encuentra desadaptada y se refuerza con resina, en el primer molar superior derecho se observa restauración amalgama adaptada, en el segundo molar inferior derecho se encuentra restauración en resina adaptada. Sexto control todas las restauraciones se encontraron adaptadas en los molares mencionados.

Rata # 6. Primer control en los primeros molares inferiores derecho e izquierdo no se observaron obturaciones y se obturaron nuevamente en amalgama, en el primer molar superior derecho la restauración en amalgama se observa adaptada. Segundo control, en los primeros molares inferiores izquierdo y derecho no se observaron las obturaciones en amalgama y se obturaron nuevamente con ionómero de vidrio, en el primer molar superior derecho se observó la restauración en amalgama adaptada, se decide reutilizar el primer molar superior izquierdo y el segundo molar inferior derecho donde se aplicó dentina seca y se obturaron con resina. Tercer control, en los primeros molares inferiores derecho e izquierdo se observaron restauraciones en ionómero de vidrio adaptadas, en el primer molar superior derecho se observa la restauración en amalgama adaptada, en el primer molar superior izquierdo y segundo molar inferior derecho se observaron las restauraciones en resina desadaptadas y se reforzaron en resina. Cuarto control, en los primeros molares inferiores derechos e izquierdos se observaron obturaciones en ionómero de vidrio desadaptadas y se reforzaron en resina, en el segundo molar inferior derecho y primer molar superior derecho se observaron las restauraciones en resina desadaptadas y se reforzaron con resina, en el primer molar superior derecho se observó obturación en amalgama desadaptada y se reforzó con resina. Quinto control en los primeros molares inferiores derecho e izquierdo se observaron obturaciones en resina adaptadas, en el segundo molar inferior derecho y primer molar superior izquierdo se observaron restauraciones en resina desadaptadas y se reforzaron con resina, en el primer molar superior derecho se observó obturación en resina desadaptada y se reforzó con resina. Sexto control, en el primer molar inferior izquierdo no se observa la restauración, en el resto de

molares se observan las restauraciones adaptadas.

Rata # 5, Primer control, en los primeros molares superior e inferior derechos se observaron restauraciones en resina adaptadas, en el primer molar inferior izquierdo no se encontró la restauración en resina se obturo nuevamente con resina. Segundo control, en los primeros molares inferior y superior derechos se observaron obturaciones en resina desadaptadas y se refuerza con resina, en el primer molar inferior izquierdo la restauración en resina se observó adaptada. Tercer control, en los primeros molares inferiores derecho e izquierdo y en el primer molar superior derecho las obturaciones en resina se observaron adaptadas. Cuarto control, en los molares anteriormente mencionados, todas las obturaciones se encontraron adaptadas. En el cuarto control se finalizó el tiempo de estudio de la rata 5 con una duración de 28 días y las ratas 1, 2 y 6 el tiempo fue de 41 días y se procedió a realizar la eutanasia con un protocolo eutanásico preestablecido: Aplicación anestésica intramuscular con Acepromacina de 0.1 mg/Kg, y Buporfanol de 0.2mg/Kg, Ketamina de 40mg/kg. Se les suministró Eutanex, que contiene Pentarvital Sódico de 390mg, Difenilhidantoina Sódica de 50mg a nivel de tórax. Posterior a la eutanasia se realizó mandibulectomía en el maxilar y en la mandíbula y sumergidas en frascos rotulados con formol para ser enviados a estudio histopatológico bajo un microscopio de luz.

El análisis estadístico realizado fue el cálculo del tiempo máximo de la obturación por cada uno de los grupos preestablecidos según el tipo de material obturante (amalgama, ionómero de vidrio y resina) para los molares.

RESULTADOS

El protocolo para anestesiarse las ratas wistar se dividió en dos secciones, la primera en el quirófano y la segunda en el bioterio. El protocolo anestésico de las ratas wistar utilizado en el quirófano de pequeños animales de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional fue el siguiente:

Se procedió a colocar la anestesia en la pared abdominal de la cavidad peritoneal se tuvo en cuenta que no estuviera en la

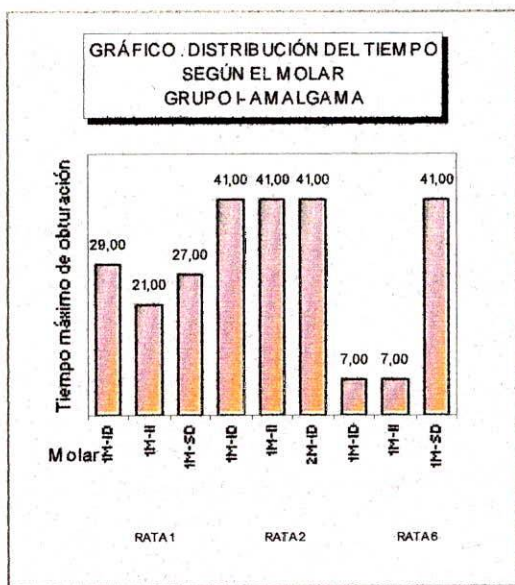
de 40 a 45 minutos, para el mantenimiento anestésico se utilizó Isoflurano a efecto con un circuito anestésico pediátrico semiabierto (Minibain), cada 15 minutos. Después del procedimiento se aplicó un analgésico intramuscular tipo Ketoprofeno de 125 mg/kg de peso una vez al día por tres días, para controlar la analgesia postoperatoria.

En el Bioterio de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional, el protocolo anestésico de las ratas wistar fue el siguiente; se colocó subcutánea Atropina al 0.08 mg/kg de peso, para producir un efecto sedante, se esperaron 2 minutos, y se inyectaron Acepromazina 0.1 mg/kg, Butarfanol 0.2 mg/kg de peso, Ketamina 40 mg/kg de peso; mezclados en una misma jeringa y se administró intramuscularmente. Posteriormente un circulante se encargaba de sostener la rata con las manos en posición decúbito ventral, para realizar la apertura de las mandíbulas se utilizaron bandas elásticas retenidas por los dientes anteriores y sostenidas en los dedos pulgar e índice de la persona encargada, se complemento con la retracción de los carrillos por medio de espátulas de resina de cemento plásticas modificadas previamente con acrílico teniendo en cuenta la anatomía bucal de las ratas para retraer la lengua y así despejar la vía aérea, permitiendo un fácil acceso del instrumental odontológico.

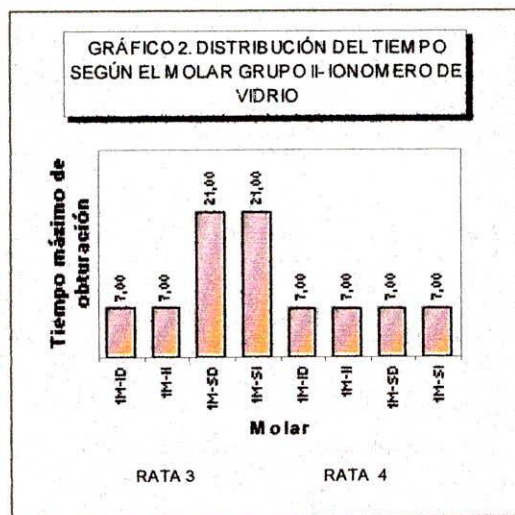
Para analizar los resultados del tiempo que permanecieron las obturaciones realizadas en amalgama, ionómero de vidrio y resina en las cavidades clase I de los primeros y segundos molares de la mandíbula y el maxilar de las ratas wistar, se conformaron cuatro grupos:

GRUPO 1: Rata 1, 2 y 6 segundo procedimiento.

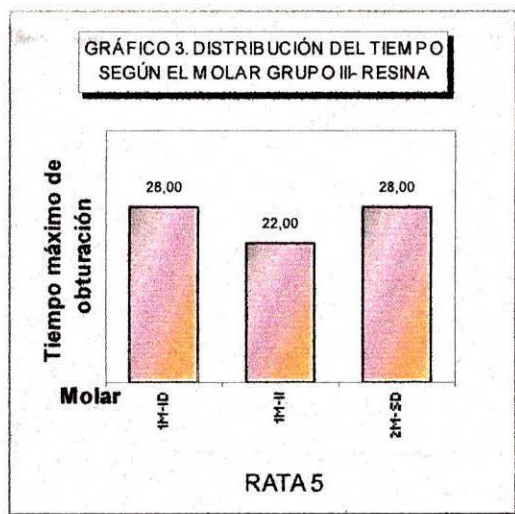
Rata 1 El material obturante utilizado en la mandíbula fue la amalgama que tuvo una duración de 29 días y en el maxilar tuvo una duración 27 días. Rata 2 El material de mayor duración tanto en el maxilar como en la mandíbula fue la amalgama con 41 días. Rata 6 El material obturante utilizado fue amalgama en donde el tiempo de duración fue 41 días en el maxilar y 7 días en la mandíbula.



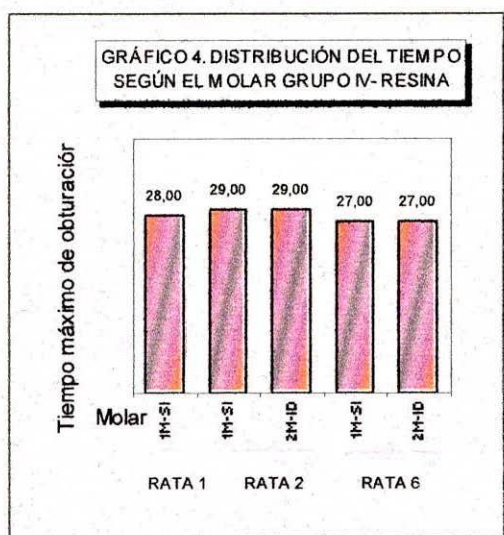
GRUPO 2: Rata 3 y 4 primer procedimiento
Rata 3 El material obturante utilizado fue el ionómero de vidrio el cual duro 21 días en el maxilar y 7 días en la mandíbula. Rata 4 El material obturante fue el ionómero de vidrio con una duración de 7 días en la mandíbula en primeros y segundos molares.



GRUPO 3: Rata 5 segundo procedimiento
Rata 5 Se utilizo resina como material obturante la cual tuvo una duración de 28 días en el maxilar y 22 en la mandíbula teniendo en cuenta que el tiempo de estudio fue de 28 días.



GRUPO 4: Rata 1, 2 y 6 en las mismas ratas se volvieron a hacer cavidades a los molares que no se les había realizado anteriormente. Rata 1: primer molar superior izquierdo obturado en resina con una duración de 28 días. Rata 2: se realizó un segundo procedimiento en el primer molar superior izquierdo y segundo molar inferior derecho donde el material obturante fue la resina utilizada como material comparativo con una duración de 29 días, con una diferencia de 12 días después de realizado el primer procedimiento. Rata 6: se realizó un procedimiento adicional en el segundo molar inferior derecho y en el primer molar superior izquierdo las cuales tuvieron una duración de 27 días.



DISCUSION

El protocolo con el cual se realizó el primer procedimiento en la clínica de pequeños animales de la clínica de pequeños

animales de la facultad de veterinaria de la Universidad Nacional fue con una técnica preanestésica con atropina 0.02 mg/kg, para un promedio de peso por rata de 350 gr equivalente a 0.007 mg/kg diluido con solución salina. El mantenimiento anestésico se utilizó una combinación anestésica. Al revisar los protocolos que nos reporta la literatura no se presentan de forma específica, sino que se adaptan de los animales pequeños. (22). Por esto toman como parámetros el peso únicamente. Con relación al protocolo anestésico establecido internacionalmente para animales pequeños y por estudios previos realizados hay una gran variedad de medicamentos utilizados para la sedación preanestésica y el mantenimiento anestésico, permitiendo una prolongación del efecto. Como agente preanestésico se reporta el uso de la atropina en dosis de 0.5 a 1 mg en diferentes especies de animales de acuerdo al peso. Se reporta el uso de barbitúricos como el pentotal y el propofol en dosis de 10 mg/Kg y de 4 a 6 mg. Otros veterinarios usan dosis únicas de anestésicos como el tiopental al 1.25% diluido con suero fisiológico para prolongar el efecto anestésico; pentotal de 25mg/Kg y pentobarbital sódico 40 a 45 mg/Kg de peso. Sin embargo se ha demostrado la presencia de efectos secundarios entre unos y otros medicamentos. De acuerdo con lo anterior fue necesario realizar una unificación entre los medicamentos utilizados en la clínica de pequeños animales y el bioterio. Esto permitió determinar la poca experiencia que se tiene en el medio veterinario para el manejo de anestesia en animales de laboratorio para tratamientos dentales. Por este motivo se perdieron tres animales del presente estudio y este factor ameritó que se estableciera el protocolo anestésico para el manejo de las ratas wistar. Otro factor que no contribuye a la investigación en animales es la reserva que han hecho los investigadores en la publicación del manejo anestésico y clínico de los animales de experimentación.

El estudio que se reporta es clínicamente significativo, por que describe el manejo clínico a nivel odontológico que se debe realizar paso por paso para hacer tratamientos dentales en animales como las ratas wistar. Los investigadores y los técnicos que se encuentran en los bioterios no aportan sus experiencias de

forma abierta. Además hay ausencia de literatura al respecto. Según Cardozo en 1999(22), las instituciones y el personal técnico no cuentan con la suficiente experiencia y capacidad de manejo en animales de experimentación, lo cual compromete significativamente los resultados y por consiguiente el éxito del estudio. En el presente estudio con todas las dificultades que se presentaron por la falta de experiencia, se logró de forma exitosa conocer el manejo clínico de los animales sin causarle daño en lo posible, y se logró aprovechar al máximo todos los molares disponibles en los animales para poder realizar las cavidades y mantener las obturaciones estableciendo el material ideal que permanece más tiempo en boca. De acuerdo con los resultados encontrados en esta primera etapa del estudio piloto, se observó que las obturaciones en resina tuvieron una mayor duración en las cavidades clase I, en relación con las obturaciones en amalgama y ionómero de vidrio, permaneciendo más tiempo en el maxilar que en la mandíbula con excepción de los molares de la rata número dos, la cual era de más peso y los molares eran de mayor tamaño favoreciendo el diseño de la cavidad y el grado de retención de la restauración. Este factor fue diferente en cada uno de los molares de las demás ratas, debido a que la superficie oclusal era más pequeña e impedía que la parte activa de la fresa conformara un diseño adecuado de la cavidad, por que eliminaba demasiada estructura dentaria. Por esto el material ideal fue la resina debido a sus propiedades físicas y de adhesión al tejido dentario. Respecto a la consistencia del alimento que ingerían, se observó que fue la variable determinante en la duración de las obturaciones, debido a las características funcionales en la masticación de las ratas aunado a la dureza de la comida, al tamaño de los pelex. Esto permitió que a mayor dureza del alimento menor tiempo de duración de la obturación. Por esta razón se decidió triturar el alimento a partir del tercer control y esto influyó en la disminución del peso de las ratas 1,2 y 6 por que la rata 5 se mantuvo estable.

Debido a la modificación de la dieta, la técnica histológica y el espesor del corte ocasionaron alteraciones en los resultados histológicos. Por esto se

recomienda utilizar el método histológico de cortes ultrafinos o de criofractura, dejar margen de seguridad amplio al retirar las mandíbulas de las ratas después de la eutanasia y realizar controles diarios por parte de los investigadores a las ratas experimentales.

CONCLUSIONES

El procedimiento del protocolo anestésico de las ratas wistar utilizado en el quirófano fue: Acepromazina 0.1 mg/kg de peso, Butorfanol 0.2 mg/kg de peso, Ketamina 15 mg/kg de peso y Atropina 0.08 mg/kg de peso; Isoflurano inhalado 1.5 por dos minutos. Como analgésico se utilizó Ketoprofeno de 125 mg/kg de peso una vez al día por tres días.

El procedimiento del protocolo anestésico de las ratas wistar utilizado en el bioterio Fue: Acepromazina 0.1 mg/kg, Ketamina y xilacine 4.8 mg/kg de peso. Como analgésico se utilizó ketoprofeno 1.25 mg/kg de peso, una vez al día por tres días.

La rata se colocaba en posición decúbito ventral, las mandíbulas, se mantenían abiertas con bandas elásticas retenidas por los dientes anteriores, este procedimiento se complementaba con la retracción de los carrillos por medio de espátulas plásticas de resina y de cemento, Para retraer la lengua y mantener la vía aérea despejada, se utilizó una espátula de resina, para el maxilar, se mantuvo en la posición pero inclinada. Al realizar las cavidades, se debe retirar totalmente el agua a la pieza de mano pediátrica, e irrigar con jeringa. Este procedimiento se debe hacer de forma rápida.

Se llevo a cabo el estudio con 25 molares de ratas wistar, de los cuales permanecieron 14 obturaciones en las cavidades de los molares. Se obturaron 4 con amalgama que permanecieron 41 días, 2 con ionómero de vidrio que permanecieron por 21 días y 8 con resina que permanecieron por 29 días Los cortes histológicos no permitieron mostrar hallazgos relevantes.

RECOMENDACIONES

Continuar con la segunda etapa experimental de la prueba piloto.

Inducir los principios éticos y de buenas prácticas en el manejo de los animales de laboratorio.

Exigir el protocolo de manejo de los animales de laboratorio en los bioterios.
 Utilizar el método histológico de cortes ultrafinos o de crio fractura.
 Dejar margen de seguridad amplio al retirar las mandíbulas de las ratas después de la eutanasiaaaa.
 Realizar controles diarios por parte de los investigadores a las ratas experimentales.
 Realizar las siguientes fases experimentales en otro bioterio.
 Escoger ratas que tengan molares de buen tamaño.

BIBLIOGRAFIA

1. GOMEZ, F. Histología y Embriología bucodental. Edit. Panamericana, ed.2. 2001; P 203-204
2. NAVARRO, M. La liofilización de productos farmacéuticos. Edit. Sintefarma. MEXICO. Enero – Julio. 1998.
3. TOVAR, J. Cartilla principios básicos para el manejo de animales de laboratorio. 1999. Pontificia Universidad Javeriana . Facultad de Ciencias Médicas.
4. MJOR, I. Dentin and pulp. In histology of the human tooth. GERMANIA. 1979. p. 43 - 73.
5. GOMEZ, F. Histología y Embriología bucodental. Edit. Panamericana, ed.3. 2002.
6. ABRAMOVICH, A. Embriología de la región maxilofacial 3 ed. 1997.
7. NAVARRO, M. La liofilización de productos farmacéuticos. Edit. Sintefarma. MEXICO. 2001.
8. Guidelines for industrial radiation sterilization of Disposable Medical Products (Cobalt -60 Gama Irradiation). [Cited 2002 November], Aviable from:
9. <http://AEA.or.at/worldatom/pies/news/> November 2002.
10. AMAIZ, A F. Recubrimientos Pulpares en Endodoncia. Universidad Central de Venezuela. Mayo 2002. P 89-99.
11. MJOR, I. And NORDAHL, I. The density and branshing of dentinal tubules in human tooth. Arc oral biology. GERMANIA. 1996; 41.5: 401 –12
12. ABRIL, Fernandez S, Tratado de Endodoncia.1998.
13. GUZMAN BAEZ, H. Biomateriales Odontológicos de uso clínico. Edit. Ecoe ed. 3. 2003. P. 203 – 204.
14. GUZMAN BAEZ, H. Biomateriales Odontológicos de uso clínico. Edit. Ecoe ed. 4 2004. P. 203 – 204.
15. BARCELO, S, CALERO, J. Materiales dentales. Conocimientos básicos aplicados. Edit. Trillas. 2003, P 62 a 75, 97 a 102, 127
16. MARCIA G, BAGBY M. Aspectos Clinicos de los Materiales en Odontología. Editorial Naget Arsof Saab. El manual moderno. México. 2001. 201: P 75 a 86 96,97.
17. SANTANA, F. CALERO, J. Tratado de Operatoria Dental 3 ed 2003.
18. CRAIG, R. Materiales dentales. Edit. Harcourt Brace. ed. 6. ESPAÑA. 1999. P. 55 -75.
19. GIRALDES AVILA, A. Manual tecnico auxiliary especialista en experimentación animal de 1993.
20. Mrad de Osorio, A. y Cardozo de Martínez, C. Programa global para la infraestructura de la investigación biológica y biomédica en manejo de animales de laboratorio. Cartilla: Principios básicos para el manejo de animales de laboratorio. Universidad Nacional de Colombia. Instituto de biotecnología. Bogotá, D.C., Colombia. 1999.
21. FERNANDEZ, M. "Bioterio y alojamiento de los animales en el bioterio" <http://www.portalveterinaria.com>. Octubre 9 de 2004.

e.mail Investigadores

malarcon@odontologico.edu.com
pequitas7226@hotmail.com
pochaco8324@hotmail.com
natatalia18@yahoo.com